

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ
ИНСТИТУТ БИОЛОГИИ ГЕНА РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК
(ИБГ РАН)

УТВЕРЖДАЮ

Директор

Федерального государственного
бюджетного учреждения науки
Института биологии гена
Российской академии наук,
академик Георгиев П.Г.



« 25 » октября 2017 г.

РАБОЧАЯ ПРОГРАММА ДИСЦИПЛИНЫ

«Современные методы биотехнологии»

Для подготовки аспирантов по специальностям


03.01.07 «молекулярная генетика» и


03.01.03 «молекулярная биология»

Москва 2017

Рабочая программа дисциплины разработана в соответствии с федеральным государственным образовательным стандартом высшего образования по направлению подготовки 06.06.01 – биологические науки (уровень подготовки кадров высшей квалификации) - Приказ Министерства образования и науки РФ от 30.07.2014 № 871.

Разработчики:

Зав. лабораторией регуляции экспрессии генов в развитии ИБГ РАН,
д.б.н., профессор РАН  Шидловский Ю.В.

Н.с. центра коллективного пользования ИБГ РАН,
к.б.н.  Дейкин А.В.

Рецензент:

Директор ИБГ РАН,
академик  Георгиев П.Г.

Программа одобрена и принята на заседании Ученого совета ИБГ РАН от «3» октября 2017 г. Протокол № 5.

1. Цели и задачи освоения дисциплины

Целью дисциплины «Современные методы биотехнологии» является формирование у аспирантов углублённых профессиональных знаний о современных методах, используемых в биотехнологии. Курс должен подготовить слушателя к работе в научно-исследовательском учреждении.

2. Место дисциплины в структуре основной образовательной программы

Дисциплина «Современные методы биотехнологии» является дисциплиной по выбору и относится к вариативной части Блока 1 программы подготовки научно-педагогических кадров высшей квалификации (аспирантура) по направлению 06.06.01 - Биологические науки.

Основные знания, необходимые для подготовки аспиранта по курсу «Современные методы биотехнологии»: общая химия, биохимия, общая биология, молекулярная биология.

3. Компетенции обучающегося, формируемые в результате освоения дисциплины

Процесс изучения дисциплины направлен на формирование следующих компетенций:

- способностью к критическому анализу и оценке современных научных достижений, генерированию новых идей при решении исследовательских и практических задач, в том числе в междисциплинарных областях (УК-1);
- способность проектировать и осуществлять комплексные исследования, в том числе междисциплинарные, на основе целостного системного научного мировоззрения, основанного на углубленном знании широкого круга биологических проблем и с использованием знаний в области истории и философии (УК-2)

- готовностью участвовать в работе российских и международных исследовательских коллективов по решению научных и научно-образовательных задач (УК-3);
- способность самостоятельно осуществлять научно-исследовательскую деятельность в соответствующей профессиональной области с использованием современных методов исследования и информационно-коммуникационных технологий (ОПК-1);
- способность к самостоятельному проведению научно-исследовательской работы и получению научных результатов, удовлетворяющих установленным требованиям к содержанию диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук (ПК-1);
- владение современными информационными технологиями для решения задач в области молекулярной биологии/генетике, статистической обработке данных, поиску необходимой информации в мировых базах данных (ПК-2).

Аспирант, прошедший курс «Современные методы биотехнологии», должен осуществлять научную и профессиональную деятельность на основе полученной теоретической и практической подготовки.

В результате освоения дисциплины «Современные методы биотехнологии» обучающийся должен демонстрировать следующие результаты обучения:

знать:

- научные основы молекулярной биотехнологии;
- основные направления получения и использования генетически модифицированных организмов различного уровня организации;
- научные основы новейших направлений и технологии получения целевых генно-инженерных продуктов для различных областей применения;
- научные основы генной диагностики и генной терапии;
- научные основы современных методов аналитики важнейших клеточных макромолекул и целевых продуктов биотехнологии;
- методологию биоинженерии органов и тканей.

уметь:

- ориентироваться в современных направлениях и новейших методах биотехнологии (геномике, генетической инженерии);
- использовать знания по новейшим направлениям современной биотехнологии;
- использовать полученные данные при написании рефератов, статей, научных проектов.

владеть:

- навыками работы с научной и учебной литературой;
- современными методами исследования биотехнологии;
- методами планирования и проведения и обработки биотехнологических экспериментов.

4. Структура и содержание дисциплины «Современные методы биотехнологии»

Общая трудоемкость дисциплины составляет 6 зачетных единицы (216 академических часов). Данная дисциплина читается на 2-м курсе в 3-м семестре (1.5 зачетных единицы, 54 академических часа) и в 4-м семестре (4.5 зачетных единицы, 162 академических часа).

Таблица №1 Объем и образовательная структура дисциплины

№ п/п	Вид учебной работы	Всего часов	3 семестр	4 семестр
1	Общая трудоемкость	216 ч., 6 (ЗЕТ)	54 ч., 1.5(ЗЕТ)	162 ч., 4.5(ЗЕТ)
2	Аудиторные занятия, в том числе:	100	20	80
2.1	Лекции	50	10	40
2.2	Практические занятия	50	10	40
3	Самостоятельная работа	112	32	80
4	Итоговый контроль	2		
	<i>Зачет</i>		2	
	<i>Зачет с оценкой</i>			2

Таблица №2. Тематический план лекций, практических занятий и самостоятельной работы аспирантов **3 семестр.**

№	Наименование темы, раздела	Виды учебной работы, включая самостоятельную работу и трудоемкость в часах.			
		Все го	Лк.	Пр. зан.	Сам. раб.
1	Основы биотехнологии	6	1	1	4
2	Основы клеточной инженерии.	6	1	1	4
3	Белковые продукты биотехнологии	5	1	1	3
4	Иммунобиотехнология.	5	1	1	3
5	Биоинформатический анализ первичных последовательностей биомолекул.	5	1	1	3
6	Электрофоретический метод разделения биомолекул.	5	1	1	3
7	Методы детекции и измерения количества белков и нуклеиновых кислот.	5	1	1	3
8	Методы исследования первичной структуры белков. Идентификация белков.	5	1	1	3
9	Методы изучения пространственной структуры белков.	5	1	1	3
10	Синтетические олигонуклеотиды. Мутагенез.	5	1	1	3
	Зачет	2			
	ИТОГО	54	10	10	32

Краткое содержание лекций и практических работ

Тема 1. Основы биотехнологии

Биообъекты как средство производства лекарственных, профилактических и диагностических средств. Макро- и микроорганизмы. Ферменты как промышленные биокатализаторы. Трансгенные растения и перспективы их использования в качестве источника фармацевтических препаратов. Культивирование клеток продуцентов – центральное звено биотехнологического процесса. Поверхностное и глубинное культивирование. Стратегия рационального drag-дизайна лекарственных препаратов.

Тема 2. Основы клеточной инженерии.

Совершенствование биообъектов методами клеточной инженерии. Совершенствование биообъектов методами мутагенеза и селекции.

Преимущества и отличия генно-инженерных методов совершенствования биообъектов по сравнению с классическими методами мутагенеза и селекции.

Тема 3. Белковые продукты биотехнологии

Биологически активные пептиды в биотехнологическом производстве лекарств. Рекомбинантные белки и полипептиды (инсулин, гормон роста, интерфероны). Традиционные и генно-инженерные методы получения. Использование рекомбинантных микроорганизмов для получения коммерческих продуктов (аминокислоты, витамины, антибиотики, природные биополимеры).

Тема 4. Иммунобиотехнология.

Моноклональные антитела. Применение моноклональных антител в иммунной диагностике (ферментный иммуносорбентный анализ) и в качестве лекарственных препаратов и высокоспецифических катализаторов ("каталитические антитела"). Иммунные сыворотки и вакцины. Рекомбинантные вакцины (субъединичные, аттенуированные, "векторные").

Тема 5. Биоинформатический анализ первичных последовательностей биомолекул.

Анализ первичных последовательностей белков и нуклеиновых кислот, выравнивание последовательностей. Базы данных нуклеотидных и аминокислотных последовательностей. Идентификация генов в геноме. Аннотация генов. Построение филогенетических деревьев. Предсказание структуры белков. Каталогизация белков и их доменов.

Тема 6. Электрофоретический метод разделения биомолекул.

Принцип метода. Используемые гели, буфера. Электрофорез в нативных и денатурирующих условиях. Фиксация и окрашивание. Элюция из геля. Изоэлектрофокусирование, двумерный электрофорез. Пульс-электрофорез.

Тема 7. Методы детекции и измерения количества белков и нуклеиновых кислот.

Методы детекции и измерения количества белков и нуклеиновых кислот. Способы детекции белков в полиакриламидном геле (окрашивание анионными красителями Кумасси и амидовый черный, окрашивание серебром). Детекция белков на нитроцеллюлозной мембране (красители, авидин-биотиновый метод, иммуноокрашивание). Метод Брэдфорда. Детекция ДНК с помощью бромистого этидия. Спектрофотометрическая детекция, оценка чистоты ДНК и РНК. ПЦР-детекция.

Тема 8. Методы исследования первичной структуры белков. Идентификация белков.

Методы определения аминокислотного состава и первичной структуры белков. Реакции химической модификации функциональных групп аминокислот. Автоматическое секвенирование белков по Эдману. Масс-спектрометрия белков, ее разновидности, использование в протеомике. Белковый фингерпринтинг. Изучение посттрансляционных модификаций.

Тема 9. Методы изучения пространственной структуры белков.

ЯМР. Рентгеноструктурный анализ. Криоэлектронная микроскопия. Локализация дисульфидных связей в белках. Методы изучения структуры белковых комплексов. Метод молекулярного моделирования.

Тема 10. Синтетические олигонуклеотиды. Мутагенез.

Синтез олигонуклеотидов. ДНК-микроматрицы (чипы), их применение. Морфолины. Аптамеры. Способы введения мутаций в последовательность ДНК. Ненаправленный мутагенез. Сайт-направленный мутагенез. Получение делеций. Аланин-сканирующий мутагенез.

Самостоятельная работа.

Изучение учебного материала, перенесенного с аудиторных занятий на самостоятельную проработку.

Таблица №3. Тематический план лекций, практических занятий и самостоятельной работы аспирантов **4 семестр.**

Краткое содержание лекций и практических работ

№	Наименование темы, раздела	Виды учебной работы, включая самостоятельную работу и трудоемкость в часах.			
		Все го	Лк.	Пр. зан.	Сам. раб.
1	Методы изучения полиморфизма генома	7	2	2	3
2	Микроорганизмы и плазмидные векторы для молекулярного клонирования	7	2	2	3
3	Фаговые векторы. Векторы для клонирования больших фрагментов ДНК	5	1	1	3
4	Эндонуклеазы рестрикции. Нуклеазы, используемые в генетической инженерии.	5	1	1	3
5	Ферменты, используемые в генетической инженерии (кроме нуклеаз).	7	2	2	3
6	Методы получения и анализа кДНК.	7	2	2	3
7	ДНК-библиотеки.	5	1	1	3
8	Методы анализа экспрессии генов	5	1	1	3
9	Полимеразная цепная реакция (ПЦР).	7	2	2	3
10	Секвенирование ДНК классическим методом.	7	2	2	3
11	Высокопроизводительное секвенирование ДНК.	8	2	2	4
12	Методы экстракции биомолекул из тканей и клеток. Центрифугирование	5	1	1	3
13	Антитела как инструмент молекулярной биологии	5	1	1	3
14	Хроматографические методы разделения биологических молекул	5	1	1	3
15	Методы локализации биомолекул	5	1	1	3
16	Культуры клеток высших эукариот. Цитометрия	7	2	2	3
17	ДНК-векторные системы высших эукариот	7	2	2	3
18	Трансгенез у животных.	5	1	1	3
19	Методы регуляции экспрессии генов у высших эукариот.	7	2	2	3
20	Методы изучения функций генов.	5	1	1	3
21	Получение рекомбинантных белков в культуре клеток	8	2	2	4
22	Инженерия белков. Фаговый дисплей	5	1	1	3

23	Методы изучения белок-белковых взаимодействий. Дрожжевая двугибридная система.	5	1	1	3
24	Методы изучения взаимодействия белков с нуклеиновыми кислотами <i>in vitro</i> .	7	2	2	3
25	Методы изучения взаимодействий белков с нуклеиновыми кислотами <i>in vivo</i>	7	2	2	3
26	Использование радиоизотопов в молекулярной биологии.	7	2	2	3
	Зачет	2			
	ИТОГО	162	40	40	80

Краткое содержание лекций и практических работ

Тема 1. Методы изучения полиморфизма генома.

Методы изучения полиморфизма генома. Методы детекции SNPs: гибридизационные методы, детекция с помощью микрочипов, полиморфизм длин рестрикционных фрагментов, ПЦР-методы (PCR), одноцепочечный конформационный полиморфизм (SSCP), электрофорез по градиенту температур (TGGE), плавление с высоким разрешением (HRM), масс-спектрометрия, секвенирование ДНК. Геномная дактилоскопия (ДНК-фингерпринтинг).

Тема 2. Микроорганизмы и плазмидные векторы для молекулярного клонирования.

Микроорганизмы, используемые в генетической инженерии. Типы векторов, используемых для клонирования. Основные компоненты вектора. Бело-голубая селекция. Введение чужеродной ДНК в клетку: химическая трансформация и электропорация. Отбор рекомбинантных клонов.

Тема 3. Фаговые векторы. Векторы для клонирования больших фрагментов ДНК.

Фаги λ и M13. Векторы на основе ДНК фага λ . Фагмиды, космиды, их емкость. Использование космид и векторов на основе хромосомы фага λ . Искусственные хромосомы ВАС и YAC. Их емкость и применение.

Тема 4. Эндонуклеазы рестрикции. Нуклеазы, используемые в

генетической инженерии.

Ферменты рестрикции и модификации, распознаваемая последовательность нуклеотидов, специфичность, механизм действия. Ферменты рестрикции I и II типов. Метилазы. Прототипы, изошизомеры. Использование рестриктаз для физического картирования ДНК. Нуклеаза S1, ДНКаза I, экзонуклеаза III E.coli. РНКазы. РНКаза A, H.

Тема 5. Ферменты, используемые в генетической инженерии (кроме нуклеаз).

ДНК-полимеразы (ДНК-полимераза I и ее свойства), фрагмент Кленова. ДНК-лигазы. РНК-полимеразы (фагов T3, T7, SP6). Фосфатазы и киназы. Их свойства и специфичность действия. Использование щелочной фосфатазы и полинуклеотидкиназы при лигировании. Создание сайтов рестрикции на концах молекул ДНК с помощью линкеров, адапторов и ПЦР.

Тема 6. Методы получения и анализа кДНК.

Синтез кДНК обратной транскриптазой. Обратная транскрипция-ПЦР. Схема приготовления двухцепочечной кДНК. Приготовление кДНК по технологии SMART.

Аmplification фрагментов кДНК, фланкирующих участок с известной последовательностью (RACE). RACE по технологии SMART. Step-Out PCR.

Тема 7. ДНК-библиотеки.

Представление о геномной и кДНК-библиотеках. Принципы их создания, представительность, методы скрининга. Виды геномных библиотек. Поиск клонов в геномной библиотеке. Контиги клонов. Принцип прогулки по геному. Вычитающая гибридизация.

Тема 8. Методы анализа экспрессии генов.

Серийный анализ генной экспрессии (SAGE). Методы исследования экспрессии генов с помощью количественного ПЦР. «Нормировочные» гены. Использование чипов и микрочипов для анализа профилей экспрессии генов. EST-маркеры. Дифференциальный дисплей. Метод вычитающей гибридизации в анализе экспрессии генов.

Тема 9. Полимеразная цепная реакция (ПЦР).

ПЦР. Основные компоненты ПЦР. Термостабильные ДНК-полимеразы. Типичная программа ПЦР. Температура отжига праймеров. Влияние различных компонентов на эффективность ПЦР. Специфичность ПЦР: ПЦР с «горячим стартом», Nested PCR, Step-out PCR. Методы детекции продукта ПЦР. ПЦР в реальном времени, методы детекции продукта ПЦР.

Тема 10. Секвенирование ДНК классическим методом.

Метод дидезокситерминаторов Сэнгера. Дидезоксинуклеотиды. Ферменты, используемые для секвенирования по методу Сэнгера. Автоматическое секвенирование. Длина чтения. Стратегия секвенирования больших геномов методом shotgun.

Тема 11. Высокопроизводительное секвенирование ДНК.

Создание библиотек, типы секвенирующих реакций (пиросеквенирование, секвенирование путем синтеза и лигирования), способы детекции продуктов реакции, обработка результатов. Сборка геномов de novo, аннотация генома.

Тема 12. Методы экстракции биомолекул из тканей и клеток.

Центрифугирование.

Методы разрушения клеток. Механические, химические и ферментативные способы дезинтеграции биологических материалов. Разделение клеточных органелл. Выделение ДНК, РНК и белков. Низкоскоростное и ультрацентрифугирование. Константа седиментации. Типы ультрацентрифугирования: дифференциальное, зонально-скоростное и равновесное. Применение угловых, бакет- и зональных роторов.

Тема 13. Антитела как инструмент молекулярной биологии.

Получение антител. Антигенность, выбор эпитопа для получения антител. Поли- и моноклональные антитела. Изотипы антител. Иммуноблоттинг. Первичные и вторичные антитела. Иммунопреципитация. Мечение антител. Иммуноокрашивание. Иммуноферментный анализ.

Тема 14. Хроматографические методы разделения биологических молекул.

Параметры, по которым осуществляется разделение макромолекул при различных типах хроматографии: молекулярная масса, растворимость, адсорбционные характеристики, соотношение гидрофильных/гидрофобных участков, электрический заряд, характер и количество ионогенных групп, биоспецифические взаимодействия. Ионообменная, гидрофобная и аффинная жидкостная хроматография. Гель-фильтрация. Детекция веществ. Способы элюции. Основные сорбенты, используемые в хроматографии. FPLC. HPLC.

Тема 15. Методы локализации биомолекул.

In situ гибридизация. Политенные хромосомы насекомых. Иммуноцитохимический анализ. Мечение белков тагами. Анализ функций белков *in vivo* с помощью методов FRET и FRAP. Томография.

Тема 16. Культуры клеток высших эукариот. Цитометрия.

Источники культур клеток. Первичные культуры. Культивирование клеток. Пассажиrowание клеток. Иммуортализация. Гибридомы.

Проточная цитометрия. Измеряемые клеточные параметры. Сортировка клеток. Оценка пролиферативной активности культуры клеток. Оценка клеточного цикла. Оценка цитотоксичности.

Тема 17. ДНК-векторные системы высших эукариот.

Векторы на основе вирусов: вирус SV40, ретровирусы, аденовирусы, бакуловирусы. Векторы на основе транспозонов. Методы трансфекции. Селективные маркеры и гены-репортеры.

Системы интеграции трансгенов у дрозофилы с использованием P-элемента, Cre-loxP-системы, ФС31-системы.

Тема 18. Трансгенез у животных.

Методы введения ДНК в клетки и получения линий трансгенных животных. Инъекция ДНК в зиготу. Получение эмбриональных стволовых клеток. Клонирование животных. Экспрессия генов в трансгенных животных. Тканеспецифичная экспрессия.

Тема 19. Методы регуляции экспрессии генов у высших эукариот.

Нокдаун гена. Использование РНК-интерференции для нокдауна. Нокаут гена в организме. Кондиционный нокаут. Таргетинг (замена) гена. Системы Cre-Lox, FLP-FRT. Трансгенные животные как система для изучения экспрессии генов млекопитающих. Система GAL4/UAS.

Тема 20. Методы изучения функций генов.

Предсказание структуры гена. Анализ функций методами биоинформатики по гомологии. Клонирование и экспрессия генов в гетерологичных системах. Комплементация мутаций. РНК-интерференция. Нокаут, таргетинг и нокин генов. Анализ мутантных форм.

Тема 21. Получение рекомбинантных белков в культуре клеток.

Основные системы наработки рекомбинантных белков. Векторы для экспрессии генов в микроорганизмах. Бакуловирусная система экспрессии в клетках насекомых. Системы экспрессии в клетках млекопитающих. Используемые линии клеток (CHO, HEK, COS). Промоторы вирусов CMV, SV40. Факторы, влияющие на выход рекомбинантного белка: копияность гена, сила промотора, наличие регуляторных элементов, стабильность мРНК, частота использования кодонов, стабильность белка. Нарботка и очистка белка. Сигналы секреции.

Тема 22. Инженерия белков. Фаговый дисплей.

Методы рационального дизайна (rational design) и направленной эволюции белков. Получение мутантных белков методами сайт-специфического мутагенеза. Получение слитых белков. Синтез белка в бесклеточной системе. Принцип метода фагового дисплея.

Тема 23. Методы изучения белок-белковых взаимодействий.

Дрожжевая двугибридная система.

Методы поиска белков, взаимодействующих с изучаемым. Соосаждение белков. Метод TAP. Аффинная очистка. Сшивка белков. Поверхностный плазмонный резонанс. Изотермическая калориметрия титрования. FRET. Белковая комплементация (protein-fragment complementation assay).

Принцип метода двугибридной системы. Вариации метода. Ограничения в использовании. Применение.

Тема 24. Методы изучения взаимодействия белков с нуклеиновыми кислотами *in vitro*.

Метод задержки в геле (EMSA). Дрожжевая одно-гибридная система. Соосаждение белков и нуклеиновых кислот (Pull-down Assay). Анализ на микроматрицах. Метод SELEX.

Тема 25. Методы изучения взаимодействий белков с нуклеиновыми кислотами *in vivo*.

Поиск и изучение свойств регуляторных элементов ДНК. Репортерные гены. Анализ гиперчувствительности к ДНКазе I (DNase I footprinting). Метод DamID. Метод хроматин-иммунопреципитации. Метод 3С и его модификации. Re-ChIP. ChIP-on-chip, ChIP-seq, ChIP-exo. РНК-иммунопреципитация. RIP-seq.

Тема 26. Использование радиоизотопов в молекулярной биологии.

Изотопы, используемые в исследованиях. Введение метки в состав белков, нуклеиновых кислот. Приготовление гибридных зондов (никтрансляция, амплификация со случайного праймера, достраивание концов с помощью фрагмента Кленова). Детекция с помощью автордиографии, фосфоимиджера. Сцинтилляционные счетчики излучения.

Самостоятельная работа.

Изучение учебного материала, перенесенного с аудиторных занятий на самостоятельную проработку.

Выявление информационных ресурсов в научных библиотеках и сети Internet по молекулярным основам эмбриогенеза.

5. Фонд оценочных средств контроля успеваемости и промежуточной аттестации:

Фонд оценочных средств (см. Приложение А)

6. Учебно-методическое и информационное обеспечение учебной дисциплины

Основная литература

1. Генетическая инженерия / С.Н. Щелкунов. - Изд. 4-ое, стереот. 3-му. - Новосибирск: Сибирское университетское издательство, 2010. - 514 с.: ил., табл., схем. - ISBN 978-5-379-01064-5; (Универсальная библиотека он-лайн).
2. Молекулярная биотехнология. Принципы и применение. Б. Глик, Дж. Пастернак. М.: Мир, 589 с., 2002. (БЕН РАН).
3. Применение современных молекулярно-биологических методов для поиска и клонирования полноразмерных нуклеотидных последовательностей к ДНК: учебное пособие / Д.В. Ребриков, Д.О. Коростин, В.Л. Ушаков и др. - М.: МИФИ, 2011. - 88 с.: ил., табл., схем. - ISBN 978-5-7262-1481-8; (Универсальная библиотека он-лайн).
4. NGS: высокопроизводительное секвенирование / Д.В. Ребриков, Д.О. Коростин, Е.С. Шубина, В.В. Ильинский; под ред. Д.В. Ребриков. - Эл. изд. - М. : БИНОМ. Лаборатория знаний, 2014. - 235 с.: ил. - Библиогр. в кн. - ISBN 978-5-9963-2415-6; (Универсальная библиотека он-лайн).
5. Jeremy W. Dale, Malcolm von Schantz, Nicholas Plant. From Genes to Genomes: Concepts and Applications of DNA Technology John Wiley & Sons, 408 p., 2002). (BOOKReader)
6. Принципы и методы биохимии и молекулярной биологии. Кейт Уилсон, Джон Уолкер. Бином: Лаборатория знаний, 848 с., 2013. (БЕН РАН)
7. Методы генетических исследований микроорганизмов: учебное пособие / О. Давыдова; Министерство образования и науки Российской Федерации, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Оренбургский государственный университет». - Оренбург: ОГУ, 2013. - 132 с.; (Универсальная библиотека он-лайн).

8. Keith Wilson, John M. Walker. Principles and Techniques of Biochemistry and Molecular Biology (7th Ed.). Cambridge University Press, 774 p., 2010. (BOOKReader).
9. Конформационный анализ белков: теория и приложения / А.М. Андрианов; под ред. Г.В. Малахова. - Минск : Белорусская наука, 2013. - 518 с. - ISBN 978-985-08-1529-3; (Универсальная библиотека он-лайн).
10. Принципы и методы биохимии и молекулярной биологии ред. К. Уилсон, Дж. Уокер; пер. с англ. Т. П. Мосоловой и Е. Ю. Бозелек-Решетняк; под ред. А. В. Левашова, В. И. Тишкова: БИНОМ. Лаборатория знаний 2013 – 848 с. (Национальная электронная библиотека).

Дополнительная литература

1. Патрушев Л. И.. Искусственные генетические системы. Т. 1: Генная и белковая инженерия. — 2004. — 526 с.: ил. — Библиогр.: с. 462-483. Предм. указ.: с. 484-510. — ISBN 5-02-032893-6.УДК: 573.6:577.21.085.2; 575.113; 577.213/.214; 577.215 (БЕН РАН)
2. Рыбчин В. Н. Основы генетической инженерии: Учеб. для биол. спец. вузов / С.-Петерб. гос. техн. ун-т. — 2-е изд., перераб. и доп. — СПб.: Изд-во СПбГТУ, 1999. — 521 с.: ил. — Библиогр. : 476-490. Предм. указ.: с. 502-512. — ISBN5-7422-0088-9.УДК: 577.21.085.23(07) (БЕН РАН)
3. Жимулев, И.Ф. Общая и молекулярная генетика: учебное пособие / И.Ф. Жимулев; отв. ред. Е.С. Беляева, А.П. Акифьев. - Изд. 4-е, стереотип. 3-му. - Новосибирск: Сибирское университетское издательство, 2007. - 480 с. - (Университетская библиотека он-лайн)
4. Тихонов, Г.П. Основы биотехнологии: методические рекомендации / Г.П. Тихонов, И.А. Минаева; Министерство транспорта Российской Федерации, Московская государственная академия водного транспорта. - М.: Альтаир: МГАВТ, 2009. - 133 с. (Университетская библиотека он-лайн)
5. Овчинников Ю.А. "Биоорганическая химия", М.: Просвещение, 1984. (БЕН РАН)

6. J. Berg, J. Tomoczko, L. Stryer. "Biochemistry", 5-nd edition, International ed., 2002. (БЕН РАН)
7. H. Lodish et al. "Molecular and Cell Biology", Freeman and Company, 4-nd edition, 2000; 5-nd edition, 2003. (BOOKReader)
8. Эллиот В., Эллиот Д. Биохимия и молекулярная биология. // М.: Маттерна-альфа. 2000. (БЕН РАН)
9. Кольман Я., Рём К.-Г. Наглядная биохимия. // М.: Бином. 2011. (БЕН РАН)
10. Шмид Рольф. Наглядная биотехнология и генетическая инженерия / Шмид Р.; Виноградова А.А. и Синюшин А.А. (пер. с нем.); Мосолова Т.П. и Синюшин А.А. (ред.). — М.: БИНОМ. Лаб. знаний, 2014. — 324 с. (БЕН РАН)
11. Уилсон К., Уолкер Дж. Принципы и методы биохимии и молекулярной биологии. // М.: Бином. 2013. (БЕН РАН)

7. Интернет-ресурсы для самостоятельной работы аспирантов

- <http://molbiol.edu.ru>
- <http://www.fhcrc.org/labs/gottschling>
- http://www.fhcrc.org/labs/breeden/Methods_BreedenLab.html
- <http://fcior.edu.ru/>
- <http://www.medbiol.ru/>
- <http://www.freesciencelectures.com/most-viewed-videos/>
- <http://biblioclub.ru>
- http://elibrary.ru/org_titles.asp
- <http://www.benran.ru/>
- <http://www.rsl.ru/>
- <http://bio.fizteh.ru/student/files/biology/biolections/>
- <http://window.edu.ru/>
- <http://bookre.org/>

- <http://sbio.info>
- <http://meduniver.com/Medical/Book/>
- <http://www.molbiol.ru/review/>
- <http://www.membrana.ru/>
- <http://science.compulenta.ru/>
- <http://www.knigafund.ru/>
- <http://www.ribk.net>
- <http://www.bibliotech.ru>
- <http://bioword.narod.ru/>

8. Материально-техническое обеспечение дисциплины

Институт располагает материально-технической базой, соответствующей действующим санитарно-техническим нормам и обеспечивающей проведение всех видов теоретической и практической подготовки, предусмотренных учебным планом аспиранта.

При освоении дисциплины аспиранты обеспечены учебной аудиторией с интерактивной доской, переносным ноутбуком, мультимедийным проектором, доступом в интернет.

В профильных лабораториях (Лаборатория молекулярных биотехнологий, Лаборатория молекулярной онкогенетики) имеется следующее оборудование: Автоклав горизонтальный с блоком управления, PH-метр, центрифуга ALLEGRA X-15R, центрифуга MICROFUGE 22R, шейкер-инкубатор в комплекте, аквадистиллятор ДЭ-4, амплификатор «ТЕРЦИК», аппарат для электрофореза, блоттинг вакуумный, весы прецизионные, система BioDok Analyze, ламинарный шкаф, камера для секвенирования, ДНК-амплификатор ТЕРЦИК с цифровым дисплеем, камера для горизонтального электрофореза, микроскоп стереоМС-1 с бинокляром, компьютер портативный, микроцентрифуга-вортекс "Микросплин», шейкер GEL 3006, шейкер в комплекте, многоканальный

амплификатор ТЕРЦИК, ячейки для электрофореза (3 шт.), электрофоретическая камера, секвенатор – LEIC ACID SEQUENCING UNIT, Конвертор Conversion, однокамерные CO₂ инкубаторы Heracell, ПЦР-амплификатор DNA Engine в комплекте, РН-метр, система гель-документации, термокомпенсатор, спектрофотометр Genesys 10UV, флюоресцентный сканер, центрифуги MICROFUGE 18, микроскоп EICA, инкубатор IGO 150 CO₂ в комплекте, микроскоп АКСИОВЕРТ 40С, проточный цитофлуориметр, система ЦИКЛОН, система конфокальной лазерной микроскопии, микроскоп ЛЕЙКА DMIL с фотокамерой, спектрофлуорофотометр, вортекс-шейкер, люминометр, компьютеры NOUTBOOK, компьютер в комплекте ПИРИТ –OFFICE и др..

Для выполнения самостоятельной работы аспиранты используют персональные компьютеры, к которым они имеют доступ в пределах своей лаборатории (своего рабочего места). Аспиранты имеют свободный доступ в Библиотеку по естественным наукам РАН (БЕН РАН), а так же к электронным библиотекам.

Приложение А

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ
ИНСТИТУТ БИОЛОГИИ ГЕНА РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК
(ИБГ РАН)**

УТВЕРЖДАЮ

Директор
Федерального государственного
бюджетного учреждения науки
Института биологии гена
Российской академии наук,
академик Георгиев П.Г.



« 5 » октября 2017 г.

ФОНД ОЦЕНОЧНЫХ СРЕДСТВ


по дисциплине


«Современные методы биотехнологии»

Исследователь. Преподаватель-исследователь
Квалификация выпускника

Москва 2017

Составители ФОС по дисциплине:

Зав. лабораторией регуляции экспрессии генов в развитии ИБГ РАН,
д.б.н., профессор РАН  Шидловский Ю.В.

Н.с. центра коллективного пользования ИБГ РАН,
к.б.н.  Дейкин А.В.

Фонд оценочных средств по дисциплине утвержден на заседании Ученого
совета. Протокол заседания № 5 от 3 октября 2017 г.

ПАСПОРТ
ФОНДА ОЦЕНОЧНЫХ СРЕДСТВ
«Современные методы биотехнологии»

наименование дисциплины

Направление подготовки 06.06.01 «Биологические науки»

3 семестр

№ п/п	Контролируемые разделы (темы дисциплины)	Код контролируемой компетенции или ее части	Наименование оценочного средства
1.	Основы биотехнологии	УК-1,УК-2, УК-3 ОПК-1 ПК-1, ПК-2	Собеседование контроль по курсу-недифференцированный зачет (вопросы к зачету)
2.	Основы клеточной инженерии.	УК-1,УК-2, УК-3 ОПК-1 ПК-1, ПК-2	Собеседование контроль по курсу-недифференцированный зачет (вопросы к зачету)
3.	Белковые продукты биотехнологии	УК-1,УК-2, УК-3 ОПК-1 ПК-1, ПК-2	Собеседование контроль по курсу-недифференцированный зачет (вопросы к зачету)
4.	Иммунобиотехнология.	УК-1,УК-2, УК-3 ОПК-1 ПК-1, ПК-2	Собеседование контроль по курсу-недифференцированный зачет (вопросы к зачету)
5.	Биоинформатический анализ первичных последовательностей биомолекул.	УК-1,УК-2, УК-3 ОПК-1 ПК-1, ПК-2	Собеседование контроль по курсу-недифференцированный зачет (вопросы к зачету)
6.	Электрофоретический метод разделения биомолекул.	УК-1,УК-2, УК-3 ОПК-1 ПК-1, ПК-2	Собеседование контроль по курсу-недифференцированный зачет (вопросы к зачету)
7.	Методы детекции и измерения количества белков и нуклеиновых кислот.	УК-1,УК-2, УК-3 ОПК-1 ПК-1, ПК-2	Собеседование контроль по курсу-недифференцированный зачет (вопросы к зачету)
8.	Методы исследования первичной структуры белков. Идентификация белков.	УК-1,УК-2, УК-3 ОПК-1 ПК-1, ПК-2	Собеседование контроль по курсу-недифференцированный зачет (вопросы к зачету)
9.	Методы изучения пространственной структуры белков.	УК-1,УК-2, УК-3 ОПК-1 ПК-1, ПК-2	Собеседование контроль по курсу-недифференцированный зачет (вопросы к зачету)
10.	Синтетические олигонуклеотиды. Мутагенез.	УК-1,УК-2, УК-3 ОПК-1 ПК-1, ПК-2	Собеседование контроль по курсу-недифференцированный зачет (вопросы к зачету)

ПАСПОРТ
 ФОНДА ОЦЕНОЧНЫХ СРЕДСТВ
«Современные методы биотехнологии»

наименование дисциплины

Направление подготовки 06.06.01 «Биологические науки»

4 семестр

№ п/п	Контролируемые разделы (темы дисциплины)	Код контролируемой компетенции или ее части	Наименование оценочного средства
11.	Методы изучения полиморфизма генома	УК-1,УК-2, УК-3 ОПК-1 ПК-1, ПК-2	Собеседование, контроль по курсу- дифференцированный зачет (вопросы к зачету)
12.	Микроорганизмы и плазмидные векторы для молекулярного клонирования	УК-1,УК-2, УК-3 ОПК-1 ПК-1, ПК-2	Собеседование, контроль по курсу- дифференцированный зачет (вопросы к зачету)
13.	Фаговые векторы. Векторы для клонирования больших фрагментов ДНК	УК-1,УК-2, УК-3 ОПК-1 ПК-1, ПК-2	Собеседование, контроль по курсу- дифференцированный зачет (вопросы к зачету)
14.	Эндонуклеазы рестрикции. Нуклеазы, используемые в генетической инженерии.	УК-1,УК-2, УК-3 ОПК-1 ПК-1, ПК-2	Собеседование, контроль по курсу- дифференцированный зачет (вопросы к зачету)
15.	Ферменты, используемые в генетической инженерии (кроме нуклеаз).	УК-1,УК-2, УК-3 ОПК-1 ПК-1, ПК-2	Собеседование, контроль по курсу- дифференцированный зачет (вопросы к зачету)
16.	Методы получения и анализа кДНК.	УК-1,УК-2, УК-3 ОПК-1 ПК-1, ПК-2	Собеседование, контроль по курсу- дифференцированный зачет (вопросы к зачету)
17.	ДНК-библиотеки.	УК-1,УК-2, УК-3 ОПК-1 ПК-1, ПК-2	Собеседование, контроль по курсу- дифференцированный зачет (вопросы к зачету)
18.	Методы анализа экспрессии генов	УК-1,УК-2, УК-3 ОПК-1 ПК-1, ПК-2	Собеседование, контроль по курсу- дифференцированный зачет (вопросы к зачету)
19.	Полимеразная цепная реакция (ПЦР).	УК-1,УК-2, УК-3 ОПК-1 ПК-1, ПК-2	Собеседование, контроль по курсу- дифференцированный зачет (вопросы к зачету)
20.	Секвенирование ДНК классическим методом.	УК-1,УК-2, УК-3 ОПК-1 ПК-1, ПК-2	Собеседование, контроль по курсу- дифференцированный зачет (вопросы к зачету)
21.	Высокопроизводительное секвенирование ДНК.	УК-1,УК-2, УК-3 ОПК-1 ПК-1, ПК-2	Собеседование, контроль по курсу- дифференцированный зачет (вопросы к зачету)
22.	Методы экстракции биомолекул из тканей и клеток. Центрифугирование	УК-1,УК-2, УК-3 ОПК-1 ПК-1, ПК-2	Собеседование, контроль по курсу- дифференцированный зачет (вопросы к зачету)

23.	Антитела как инструмент молекулярной биологии	УК-1,УК-2, УК-3 ОПК-1 ПК-1, ПК-2	Собеседование, контроль по курсу- дифференцированный зачет (вопросы к зачету)
24.	Хроматографические методы разделения биологических молекул	УК-1,УК-2, УК-3 ОПК-1 ПК-1, ПК-2	Собеседование, контроль по курсу- дифференцированный зачет (вопросы к зачету)
25.	Методы локализации биомолекул	УК-1,УК-2, УК-3 ОПК-1 ПК-1, ПК-2	Собеседование, контроль по курсу- дифференцированный зачет (вопросы к зачету)
26.	Культуры клеток высших эукариот. Цитометрия	УК-1,УК-2, УК-3 ОПК-1 ПК-1, ПК-2	Собеседование, контроль по курсу- дифференцированный зачет (вопросы к зачету)
27.	ДНК-векторные системы высших эукариот	УК-1,УК-2, УК-3 ОПК-1 ПК-1, ПК-2	Собеседование, контроль по курсу- дифференцированный зачет (вопросы к зачету)
28.	Трансгенез у животных.	УК-1,УК-2, УК-3 ОПК-1 ПК-1, ПК-2	Собеседование, контроль по курсу- дифференцированный зачет (вопросы к зачету)
29.	Методы регуляции экспрессии генов у высших эукариот.	УК-1,УК-2, УК-3 ОПК-1 ПК-1, ПК-2	Собеседование, контроль по курсу- дифференцированный зачет (вопросы к зачету)

Оценочные средства для контроля компетенций

Текущий контроль успеваемости проводится в соответствии с Положением об аттестации аспирантов и соискателей (утвержденным Ученым советом протокол № 4 от 24 мая 2016 года).

Формы текущего контроля:

- собеседование;
- посещаемость занятий.

Проверка усвоения материала дисциплины осуществляется в форме текущего собеседования с аспирантами после каждого занятия.

Промежуточная аттестация аспирантов.

Промежуточная аттестация по дисциплине осуществляется в форме зачета (не дифференцируемый зачет) и зачета с оценкой (дифференцируемый зачет) в соответствии с Графиком учебного процесса. Оценивание обучающегося на промежуточной аттестации осуществляется с использованием нормативных оценок на дифференцируемом зачете - по 4-х бальной системе: (зачтено - 5-отлично, 4-хорошо, 3-удовлетворительно, не

зачтено - 2-не удовлетворительно); на не дифференцируемом зачете: зачтено/(не зачтено).

В конце 3 семестра проводится не дифференцированный зачет, в конце 4 семестра проводится дифференцированный зачет.

Примерный список вопросов для проведения промежуточной аттестации на 3 семестре:

1. Биообъекты как средство производства лекарственных, профилактических и диагностических средств. Макро- и микроорганизмы.
2. Синтетические олигонуклеотиды. Мутагенез. Синтез олигонуклеотидов. Морфолины. Аптамеры. Способы введения мутаций в последовательность ДНК.
3. Стратегия рационального drug-дизайна лекарственных препаратов.
4. Способы детекции белков в полиакриламидном геле (окрашивание анионными красителями Кумасси и амидовый черный, окрашивание серебром).
5. Локализация дисульфидных связей в белках.
6. Фиксация и окрашивание. Элюция из геля. Изоэлектрофокусирование, двумерный электрофорез. Пульс-электрофорез.
7. Методы определения аминокислотного состава и первичной структуры белков. Реакции химической модификации.
8. Поверхностное и глубинное культивирование.
9. Функциональных групп аминокислот. Автоматическое секвенирование белков по Эдману.
10. Электрофоретический метод разделения биомолекул.
11. Масс-спектрометрия белков, ее разновидности, использование в протеомике. Белковый фингерпринтинг. Изучение посттрансляционных модификаций.
12. Биоинформатический анализ первичных последовательностей биомолекул.

13. Метод Брэдфорда. Детекция ДНК с помощью бромистого этидия. Спектрофотометрическая детекция, оценка чистоты ДНК и РНК. ПЦР-детекция.

14. ЯМР. Рентгеноструктурный анализ. Криоэлектронная микроскопия

15. Биологически активные пептиды в биотехнологическом производстве лекарств. Рекомбинантные белки и полипептиды (инсулин, гормон роста, интерфероны).

16. Детекция белков на нитроцеллюлозной мембране (красители, авидин-биотиновый метод, иммуноокрашивание).

17. Культивирование клеток продуцентов – центральное звено биотехнологического процесса.

18. Преимущества и отличия генно-инженерных методов совершенствования биообъектов по сравнению с классическими методами мутагенеза и селекции.

19. Принцип метода. Используемые гели, буфера. Электрофорез в нативных и денатурирующих условиях.

20. Ненаправленный мутагенез. Сайт-направленный мутагенез. Получение делеций. Аланин-сканирующий мутагенез.

21. Моноклональные антитела. Применение моноклональных антител в иммунной диагностике (ферментный иммуносорбентный анализ) и в качестве лекарственных препаратов и высокоспецифических катализаторов (“каталитические антитела”).

22. Методы детекции и измерения количества белков и нуклеиновых кислот.

23. Иммунобиотехнология. Иммунные сыворотки и вакцины. Рекомбинантные вакцины (субъединичные, аттенуированные, ”векторные”).

24. Методы изучения структуры белковых комплексов. Метод молекулярного моделирования.

25. Традиционные и генно-инженерные методы получения. Использование рекомбинантных микроорганизмов для получения

коммерческих продуктов (аминокислоты, витамины, антибиотики, природные биополимеры).

26. Анализ первичных последовательностей белков и нуклеиновых кислот, выравнивание последовательностей. Базы данных нуклеотидных и аминокислотных последовательностей.

Примерный список вопросов для проведения промежуточной аттестации на 4 семестре:

1. Политенные хромосомы насекомых. Иммуноцитохимический анализ.
2. Методы трансфекции. Селективные маркеры и гены-репортеры.
3. Амплификация фрагментов кДНК, фланкирующих участок с известной последовательностью (RACE). RACE по технологии SMART. Step-Out PCR.
4. Антитела как инструмент молекулярной биологии.
5. Методы изучения полиморфизма генома.
6. Ферменты рестрикции I и II типов. Метилазы. Прототипы, изошизомеры. Использование рестриктаз для физического картирования ДНК.
7. Создание библиотек, типы секвенирующих реакций (пиросеквенирование, секвенирование путем синтеза и лигирования).
8. Изотопы, используемые в исследованиях. Введение метки в состав белков, нуклеиновых кислот.
9. Анализ функций методами биоинформатики по гомологии. Клонирование и экспрессия генов в гетерологичных системах. Комплементация мутаций.
10. Секвенирование ДНК. Геномная дактилоскопия (ДНК-фингерпринтинг).
11. Фрагмент Кленова. ДНК-лигазы. РНК-полимеразы (фагов T3, T7, SP6). Фосфатазы и киназы.
12. Использование космид и векторов на основе хромосомы фага λ . Искусственные хромосомы ВАС и YAC. Их емкость и применение.

13. Синтез кДНК обратной транскриптазой. Обратная транскрипция-ПЦР. Схема приготовления двухцепочечной кДНК. Приготовление кДНК по технологии SMART.
14. Методы введения ДНК в клетки и получения линий трансгенных животных. Инъекция ДНК в зиготу. Получение эмбриональных стволовых клеток.
15. Методы регуляции экспрессии генов у высших эукариот.
16. Основные системы наработки рекомбинантных белков. Векторы для экспрессии генов в микроорганизмах.
17. Электрофорез по градиенту температур (TGGE), плавление с высоким разрешением (HRM), масс-спектрометрия.
18. Виды геномных библиотек. Поиск клонов в геномной библиотеке. Контиги клонов. Принцип прогулки по геному. Вычитающая гибридизация.
19. Проточная цитометрия. Измеряемые клеточные параметры. Сортировка клеток. Оценка пролиферативной активности культуры клеток. Оценка клеточного цикла. Оценка цитотоксичности.
20. Сборка геномов de novo, аннотация генома.
21. Метод 3С и его модификации. Re-ChIP. ChIP-on-chip, ChIP-seq, ChIP-ехо. РНК-иммунопреципитация. RIP-seq.
22. Типы векторов, используемых для клонирования. Основные компоненты вектора. Бело-голубая селекция.
23. ПЦР. Основные компоненты ПЦР. Термостабильные ДНК-полимеразы. Типичная программа ПЦР. Температура отжига праймеров. Влияние различных компонентов на эффективность ПЦР.
24. Ионообменная, гидрофобная и аффинная жидкостная хроматография. Гель-фильтрация. Детекция веществ. Способы элюции.
25. Таргетинг (замена) гена. Системы Cre-Lox, FLP-FRT. Трансгенные животные как система для изучения экспрессии генов млекопитающих. Система GAL4/UAS.

26. Представление о геномной и кДНК-библиотеках. Принципы их создания, представительность, методы скрининга.
27. Метод дидезокситерминаторов Сэнгера. Дидезоксинуклеотиды. Ферменты, используемые для секвенирования по методу Сэнгера.
28. РНК-интерференция. Нокаут, таргетинг и нокин генов. Анализ мутантных форм.
29. Эндонуклеазы рестрикции. Нуклеазы, используемые в генетической инженерии. Нуклеаза S1, ДНКаза I, экзонуклеаза III E.coli. РНКазы. РНКаза А, Н.
30. Методы исследования экспрессии генов с помощью количественного ПЦР. «Нормировочные» гены. Использование чипов и микрочипов для анализа профилей экспрессии генов. EST-маркеры.
31. Микроорганизмы, используемые в генетической инженерии.
32. Методы изучения функций генов.
33. Методы изучения взаимодействия белков с нуклеиновыми кислотами *in vitro*.
34. Методы анализа экспрессии генов.
35. Методы локализации биомолекул.
36. Клонирование животных. Экспрессия генов в трансгенных животных. Тканеспецифичная экспрессия.
37. Дифференциальный дисплей. Метод вычитающей гибридизации в анализе экспрессии генов.
38. Метод задержки в геле (EMSA). Дрожжевая одно-гибридная система.
39. Методы поиска белков, взаимодействующих с изучаемым. Соосаждение белков. Метод ТАР.
40. Фаговые векторы. Векторы для клонирования больших фрагментов ДНК.
41. Параметры, по которым осуществляется разделение макромолекул при различных типах хроматографии.

42. Специфичность ПЦР: ПЦР с «горячим стартом», Nested PCR, Step-out PCR. Методы детекции продукта ПЦР. ПЦР в реальном времени, методы детекции продукта ПЦР.
43. Методы изучения взаимодействий белков с нуклеиновыми кислотами *in vivo*.
44. Принцип метода двугибридной системы. Вариации метода. Ограничения в использовании. Применение.
45. Сигналы секреции. Нарботка и очистка белка.
46. Автоматическое секвенирование. Длина чтения. Стратегия секвенирования больших геномов методом shotgun.
47. Методы детекции SNPs: гибридизационные методы, детекция с помощью микрочипов, полиморфизм длин рестрикционных фрагментов, ПЦР-методы.
48. Создание сайтов рестрикции на концах молекул ДНК с помощью линкеров, адапторов и ПЦР.
49. Анализ функций белков *in vivo* с помощью методов FRET и FRAP. Томография.
50. Нокаун гена. Использование РНК-интерференции для нокауна. Нокаут гена в организме. Кондиционный нокаут.
51. Методы рационального дизайна (rational design) и направленной эволюции белков.
52. Методы изучения белок-белковых взаимодействий. Дрожжевая двугибридная система.
53. Синтез белка в бесклеточной системе. Принцип метода фагового дисплея.
54. Константа седиментации. Типы ультрацентрифугирования: дифференциальное, зонально-скоростное и равновесное. Применение угловых, бакет- и зональных роторов.
55. Первичные и вторичные антитела. Иммунопреципитация. Мечение антител. Иммуноокрашивание. Иммуноферментный анализ.

56. Источники культур клеток. Первичные культуры. Культивирование клеток. Пассажиrowание клеток. Иммуортализация. Гибридомы.
57. Хроматографические методы разделения биологических молекул.
58. Бакуловирусная система экспрессии в клетках насекомых. Системы экспрессии в клетках млекопитающих.
59. Репортерные гены. Анализ гиперчувствительности к ДНКазе I (DNase I footprinting). Метод DamID. Метод хроматин-иммуопреципитации.
60. Разделение клеточных органелл. Выделение ДНК, РНК и белков. Низкоскоростное и ультрацентрифугирование.
61. Приготовление гибридационных зондов (ник-трансляция, амплификация со случайного праймера, достраивание концов с помощью фрагмента Кленова). Детекция с помощью автордиографии, фосфоимиджера. Сцинтилляционные счетчики излучения.
62. Векторы на основе вирусов. Векторы на основе транспозонов.
63. Получение антител. Антигенность, выбор эпитопа для получения антител. Поли- и моноклональные антитела. Изотипы антител. Иммуоблотинг.
64. Методы разрушения клеток. Механические, химические и ферментативные способы дезинтеграции биологических материалов.
65. Соосаждение белков и нуклеиновых кислот (Pull-down Assay). Анализ на микроматрицах. Метод SELEX.
66. Факторы, влияющие на выход рекомбинантного белка: копияность гена, сила промотора, наличие регуляторных элементов, стабильность мРНК, частота использования кодонов, стабильность белка.
67. Ферменты, используемые в генетической инженерии.
68. Введение чужеродной ДНК в клетку: химическая трансформация и электропорация. Отбор рекомбинантных клонов. Аффинная очистка. Сшивка белков. Поверхностный плазмонный резонанс. Изотермическая калориметрия титрования. FRET. Белковая комплементация (protein-fragment complementation assay).

Оценивание аспиранта на промежуточной аттестации в форме зачета

Оценивание аспиранта на промежуточной аттестации в форме зачета	Требования к знаниям и критерии выставления оценок
<i>Зачтено</i>	<p>Аспирант при ответе демонстрирует содержание тем учебной дисциплины, владеет основными понятиями, знает особенности молекулярных методов, используемых в молекулярной биологии и биотехнологии.</p> <p>Информирован и способен делать анализ проблем и намечать пути их решения.</p>
<i>не зачтено</i>	<p>Аспирант при ответе демонстрирует плохое знание значительной части основного материала в области молекулярных методов, используемых в молекулярной биологии и биотехнологии.</p> <p>Не информирован или слабо разбирается в проблемах, и или не в состоянии наметить пути их решения.</p>

Оценивание аспиранта на промежуточной аттестации в форме зачета с оценкой

Оценивание аспиранта на промежуточной аттестации Оценка	Требования к знаниям и критерии выставления оценок
2, неудовлетворительно	<p>Аспирант при ответе демонстрирует плохое знание значительной части основного материала в области современной методологии молекулярной биологии.</p> <p>Не информирован или слабо разбирается в проблемах, и или не в состоянии наметить пути их решения.</p>
3, удовлетворительно	<p>Аспирант при ответе демонстрирует знания только основного материала в области молекулярных методов, допускает неточности, недостаточно правильные формулировки, нарушает логическую последовательность в изложении.</p> <p>Фрагментарно разбирается в проблемах, и не всегда</p>

	в состоянии наметить пути их решения
4, хорошо	Аспирант при ответе демонстрирует хорошее владение и использование знаний в области молекулярных методов, твердо знает материал, грамотно и по существу излагает его, не допуская существенных неточностей в ответе на вопрос, правильно трактует теоретические положения. Достаточно уверенно разбирается в проблемах, но не всегда в состоянии наметить пути их решения.
5, отлично	Аспирант при ответе демонстрирует глубокое и прочное владение и использование знаний в области молекулярных методов, исчерпывающе, последовательно, четко и логически стройно его излагает его на зачете, умеет тесно увязывать теорию с практикой, свободно справляется с вопросами и другими видами применения знаний, причем не затрудняется с ответом, использует в ответе материал монографической литературы, правильно обосновывает принятое решение.